胡麻饼代替豆粕对绵羊瘤胃代谢的影响

于胜晨[1] 郝小燕[1] 武晓东[1] 丁 娜[1] 刁小高[1] 项斌伟[2] 张文佳[2] 张建新[1*]

（1. 山西农业大学动物科技学院，太谷 030801；2. 山西省右玉县畜牧局，右玉 037200）

摘 要：本文通过研究绵羊瘤胃发酵、消化酶活性及瘤胃上皮组织中挥发性脂肪酸（VFA）吸收相关基因表达量，探讨胡麻饼代替豆粕对绵羊瘤胃代谢的影响。试验选取 5 月龄、体重为（26.0±1.0） kg 的杜泊×小尾寒羊杂交 F1 代公羔 24 只，随机分为 4 组[对照（CK）、I、II和III组]，每组 6 只羊，分别饲喂胡麻饼代替豆粕的饲粮，胡麻饼添加比例分别为 0、6%、12%和 18%。试验结束后，屠宰并取样，采集瘤胃液和瘤胃组织，研究瘤胃液发酵参数、消化酶活性及瘤胃上皮组织 VFA 吸收相关基因的表达。预试期 10 d，正试期 60 d。结果表明：1）I和II组的平均日增重（ADG）与 CK 组无显著差异（$P>0.05$），但显著高于III组（$P<0.05$）；II组的料重比（F/G）显著低于 CK 组（$P<0.05$）。2）与 CK 组相比，II和III组的羟甲基纤维素酶、β-葡萄糖苷酶和蛋白酶的活性显著提高（$P<0.05$），III组木聚糖酶和果胶酶活性显著提高（$P<0.05$）。3）与 CK 组相比，胡麻饼代替豆粕对绵羊瘤胃液 pH、丙酸和乳酸浓度、乙丙比无显著影响（$P>0.05$），但II组乙酸、丁酸和总挥发性脂肪酸（TVFA）的浓度显著提高（$P<0.05$）；I、II和III组氨态氮（NH_3-N）浓度均显著降低（$P<0.05$），微生物蛋白（MCP）浓度显著提高（$P<0.05$）；4）与 CK 组相比，II组单羧酸转运蛋白 1（*MCT*1）和单羧酸转运蛋白 4（*MCT*4）的 mRNA 相对表达量显著提高（$P<0.05$），腺瘤下调蛋白（*DRA*）的 mRNA 相对表达量显著降低（$P<0.05$）；III组 Na^+/H^+交换蛋白（*NHE*3）的 mRNA 相对表达量显著提高（$P<0.05$），*MCT*1、*MCT*4 和 *DRA* 的 mRNA 相对表达量显著降低（$P<0.05$）；胡麻饼代替豆粕对阴离子交换蛋白 2（*AE*2）的 mRNA 表达量无显著影响（$P>0.05$）。综上，绵羊饲粮中一定比例的胡麻饼代替豆粕能够改善瘤胃代

收稿日期：2018-03-28
基金项目：国家现代肉羊产业技术体系专项（CARS-38）；山西省协同创新中心项目；国家星火计划项目（2015GA630004）
作者简介：于胜晨（1992—），男，山东菏泽人，硕士研究生，从事反刍动物营养与饲料科学的研究。E-mail: yusc2016@163.com
*通信作者：张建新，教授，博士生导师，E-mail: ypzjx@126.com

谢状况，在本试验条件下，饲粮中胡麻饼替代豆粕的适宜添加比例为 12%。

关键词：胡麻饼；羔羊；瘤胃发酵；酶活性；VFA 相关基因表达

中图分类号：S826　　　　　　文献标识码：　　　　　　　　文章编号：

山西省是胡麻的主要产区之一，总产量 6.3 万 t，胡麻饼（oil cake of flax seed，OCFS）是胡麻籽榨油的主要副产物，合理利用胡麻饼可以减少资源浪费。胡麻饼中含有丰富的多不饱和脂肪酸（PUFA），如α-亚麻酸可以影响瘤胃微生物氢化途径，调控瘤胃发酵模式，改变发酵终产物的形成[1-2]；此外，PUFA 可以通过参与瘤胃内纤维消化和抑制产氢微生物的毒性作用来降低瘤胃甲烷生成[3-4]。武晓东等[5]研究表明，胡麻饼可以代替豆粕作为绵羊育肥期的蛋白质饲料来源，提高绵羊肉品质和机体抗氧化能力。胡麻饼中含有的亚麻籽胶是一种具有保健作用的膳食纤维[6]。除此之外，胡麻饼中矿物质、维生素和抗病氨基酸[7]等含量也较为丰富。

然而，胡麻饼也含有亚麻氰苷、抗维生素 B_6 因子和植酸等抗营养因子。动物采食胡麻，其受损组织细胞中的β-葡萄糖苷酶和α-羟氰裂解酶接触亚麻氰苷，使其降解并释放有毒物质氰化氢（HCN）[8]，此物质对瘤胃的正常代谢和发育产生不利的影响。因此，研究胡麻饼对瘤胃代谢及发育的影响，对胡麻饼在反刍动物生产中的合理利用有重要意义。

本试验以杜泊×小尾寒羊杂交 F1 代公羔为研究对象，通过测定瘤胃发酵、瘤胃液消化酶活性以及挥发性脂肪（VFA）吸收相关基因表达量，探讨胡麻饼代替豆粕对绵羊瘤胃代谢的影响，并确定最适添加比例，为胡麻饼在反刍动物生产中的合理利用提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　试验动物及设计

本试验选取 24 只 5 月龄、体重为（26.0±1.0） kg、健康状况良好的杜泊×小尾寒羊杂交 F1 代公羔为试验动物，采用完全随机分组试验设计，将试验羊随机分为 4 组[对照（CK）、Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ组]，每组 6 只羊，分别饲喂胡麻饼代替豆粕的饲粮，胡麻饼添加比例分别为 0、6%、12%和 18%。

1.2　试验饲粮

本试验选用右玉某公司的胡麻饼，自然风干后贮存备用，其营养成分见表 1。基础饲粮参考 NRC（2007）绵羊营养需要中体重 25 kg、日增重 300 g 公羔的营养需要设计。试验饲粮均为全混合日粮（TMR）颗粒，其组成及营养水平见表 2。

表 1　胡麻饼营养成分（干物质基础）

Table 1　Nutrient components of oil cake of flax seed (DM basis)　　%

项目 Items	含量 Content
干物质 DM	90.20
粗蛋白质 CP	34.94
粗脂肪 EE	10.39
粗灰分 Ash	6.64
中性洗涤纤维 NDF	47.76
酸性洗涤纤维 ANF	23.58
钙 Ca	0.39
磷 P	1.00

表 2　试验饲粮组成及营养水平（干物质基础）

Table 2　Composition and nutrient levels of experimental diets (DM basis)　　%

项目	组别 Groups			
Items	CK	I	II	III
原料 Ingredients				
玉米秸秆 Corn straw	55	55	55	55
玉米 Corn	22	22	22	22
豆粕 Soybean meal	18	12	6	
胡麻饼 Oil cake of flax seed		6	12	18

预混料 Premix[1)]	5	5	5	5
合计 Total	100	100	100	100
营养水平 Nutrient levels[2)]				
干物质 DM	88.84	87.88	89.23	88.18
粗蛋白质 CP	14.09	13.13	11.23	10.58
粗灰分 Ash	7.78	7.96	8.42	8.17
中性洗涤纤维 NDF	50.74	51.48	53.23	54.87
酸性洗涤纤维 ADF	29.19	28.74	31.08	31.92
钙 Ca	0.42	0.42	0.45	0.44
磷 P	0.26	0.30	0.30	0.29
消化能 DE/(MJ/kg)	9.03	9.00	8.89	8.69

[1)]预混料为每千克饲粮提供 The premix provide the following per kg of diets: Cu 15 mg, Fe 55 mg, Mn 40 mg, Se 0.3 mg, I 0.5 mg, Co 0.2 mg, VA 20 000 IU, VD 4 000 IU, VE 400 IU.

[2)]除消化能外，其他营养水平均为实测值。Beside DE, the other nutrient levels were measured values.

1.3 饲养管理

本试验于 2016 年 5 月至 2016 年 8 月在山西省右玉县宏宇种羊养殖基地进行。预试期 10 d，正试期 60 d。试验羊分别于每天 08：00 和 16：00 进行 2 次饲喂。所有试验羊单栏饲养，自由采食，自由饮水。

1.4 样品的采集与测定

1.4.1 饲粮营养水平的测定

胡麻饼和试验饲粮的干物质（DM）、粗灰分（Ash）、粗脂肪（EE）和粗蛋白质（CP）含量参考张丽英[9]方法测定；酸性洗涤纤维（ADF）和中性洗涤纤维（NDF）含量参考 Van Soest 等[10]方法并结合 ANKOM 滤袋技术利用 ANKOM A200i 型半自动分析仪测定；钙（Ca）含量采用原子吸收分光光度计（EWAI，AA-7020）测定[11]，磷（P）含量采用紫外分光光度计（Mapada,

UV-1800PC）测定[12]。消化能（DE）为计算值，计算公式为：

DE=19.509-0.170×NDF-0.006×（DM-Ash）-0.097×CP (R^2=0.973，P＜0.001）[13]。

1.4.2　生长性能的测定

平均日采食量（ADFI）：在整个试验期每天准确称量记录每只试验羊的喂料量和剩料量，计算 ADFI（非干物质条件下）。平均日增重（ADG）：所有试验羊在正试期第 1 天进行空腹称重，每隔 30 d 空腹称重 1 次，计算 ADG。计算料重比（F/G）：

F/G=ADFI/ADG。

1.4.3　样品的采集

试验期结束的当天 20：00 时对所有试验羊进行禁食禁水 12 h，次日 08：00 空腹屠宰。屠宰后，取出瘤胃，用剪刀沿瘤胃冠状沟将其剥开，迅速用无菌烧杯从瘤胃不同部位采集瘤胃液，用 4 层无菌纱布过滤，利用 PHS-3G 型 pH 计实时测定 pH。同时取 10 mL 瘤胃液于 15 mL 离心管内，液氮速冻，-20 ℃保存备用。清空瘤胃内容物并用生理盐水将瘤胃壁冲洗干净，采集 1 块 1 cm^2 左右的瘤胃左侧背囊，液氮速冻，-80 ℃保存备用。

1.4.4　瘤胃发酵指标的测定

准确称量 25 g 偏磷酸和 0.646 4 g 巴豆酸定容于 100 mL 容量瓶中配制成去蛋白质溶液。取 1.5 mL 瘤胃液，10 621×g 离心 10 min，然后取 1 mL 上清液加入 0.2 mL 的去蛋白质溶液，混合均匀，30 min 冰水浴后 15 294×g 离心 5 min，利用气相色谱仪（Thermo Fisher，Trace GC）测定 VFA 浓度[14]。参照亚硝基铁氰化钠-次氯酸钠比色法并利用紫外分光光度计测定氨态氮（NH_3-N）浓度[15]。利用乳酸检测试剂盒（南京建成生物工程研究所）测定乳酸浓度。取 1 mL 瘤胃液，430×g 离心 5 min，去除原虫和饲粮颗粒后，参照 Makkar 等[16]的比色法测定瘤胃微生物蛋白浓度。

瘤胃液消化酶活性测定：按照 Agarwal 等[17]的方法测定瘤胃液羟甲基纤维素酶、β-葡萄糖苷酶、木聚糖酶和果胶酶的活性。α-淀粉酶和蛋白酶活性分别采用α-淀粉酶检测试剂盒和胃蛋白酶检测试剂盒（南京建成生物工程研究所）测定。

1.4.5　瘤胃背囊组织 VFA 吸收相关基因 mRNA 相对表达量的测定

将采集的瘤胃背囊组织在液氮环境下利用直径为 8 cm 的陶瓷研钵迅速磨成粉末状，取 35~70 mg 置于装有 750 μL Trizol 的 1.5 mL 的 EP 管中，用匀浆仪（Polytron，PT 1200E）匀浆处理，提取总 RNA[18]。提取的总 RNA 利用 TaKaRa 公司的 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒反转录合成 cDNA，并检测 cDNA 浓度。在 NCBI 上查找目的基因单羧酸转运蛋白 1（mono-carboxylate transporters 1，*MCT*1）、单羧酸转运蛋白 4（mono-carboxylate transporters 4，*MCT*4）、阴离子交换蛋白 2（anion exchanger 2，*AE*2）、腺瘤下调蛋白（down regulated in adenoma，*DRA*）、Na^+/H^+交换蛋白（Na^+/H^+ exchange，*NHR*3）以及内参基因核糖体大亚基蛋白 L13(ribosomal protein L13，*RpL*13)的序列[15]，利用 Primer3 在线设计引物（表 3），由北京六合华大基因科技股份有限公司合成。采用荧光定量 PCR 仪，以合成的 cDNA 为模板进行定量分析，结果根据 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算。

表 3　基因引物序列

Table 3　Primer sequences of genes

基因 Genes	GenBank 登录号 GenBank accession No.	引物序列 Primer sequence（5'-3'）	产物长度 Product size/bp
单羧酸转运蛋白 1 *MCT*1	XM_004002335	F:TTAGCAATTATGGCAAGAGT R:TACAAGTCCCATAGAAGGTC	106
单羧酸转运蛋白 4 *MCT*4	XM_012186383	F:GCCCTACTCTGTCTACCT R:GGAGATGCCGAAGAAGAT	121
阴离子交换蛋白 2 *AE*2	XM_015095139	F:TCTTCATCGCCTTCTTCCTG R:GCTTCTGGGTGTAGGTGTCC	126
腺瘤下调蛋白 *DRA*	XN_012100429	F:CGGCTGGGCTTCGTGGTG R:GATCGGTATGTGCGGGGACTGT	130
Na^+/H^+交换蛋白 *NHE*3	XM_021608235	F:GAGGTGCTGTTCATCATC R:CACGAAGAAGGACACTATTC	150

核糖体大亚基蛋白 L13 *RPL*13	XM_015100414	F:GCAAAAAGGGCCAAGGAAGC R:CAAAGGTCAGACACACCCCA	155

1.5　数据处理与统计分析

本试验数据用 Excel 2010 进行初步整理，采用 SPSS 22.0 进行单因素方差分析，并用 Duncan 氏法进行多重比较，结果表示为平均值±标准差。P<0.05 表示差异显著。

2　结　果

2.1　饲粮中胡麻饼代替豆粕对绵羊生长性能的影响

由表 4 可见，与 CK 组相比，I和II组的 ADG 和 ADFI 无显著差异（P>0.05），但III组 ADFI 显著降低（P<0.05）。II组的料重比显著低于 CK 组（P<0.05），I和III组与 CK 组无显著差异（P>0.05）。

表 4　饲粮中胡麻饼代替豆粕对绵羊生长性能的影响

Table 4　Effects of replacement of soybean meal by oil cake of flax seed in diets on growth performance of sheep

项目 Items	组别 Groups				P 值 P-value
	CK	I	II	III	
平均日增重 ADG/（g/d）	232±19[ab]	274±29[a]	266±32[a]	203±33[b]	0.028
平均日采食量 ADFI/（g/d）	2 015±124[a]	2 101±139[a]	1 807±124[ab]	1 535±139[b]	0.037
料重比 F/G	8.65±0.60[a]	7.70±0.89[ab]	6.80±0.75[b]	7.57±1.00[ab]	0.032

同行数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著（P>0.05），不同小写字母表示差异显著（P<0.05）。下表同。

In the same row, values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference (P>0.05), while with different small letter superscripts mean significant difference (P<0.05).

The same as below.

2.2　饲粮中胡麻饼代替豆粕对绵羊瘤胃液中消化酶活性的影响

由表 5 可见，胡麻饼代替豆粕对绵羊瘤胃液α-淀粉酶活性无显著影响（*P*>0.05）。II和III组的瘤胃液羟甲基纤维素酶、β-葡萄糖苷酶和蛋白酶活性显著高于 CK 组（*P*<0.05）。III组的瘤胃液木聚糖酶活性显著高于 CK 和I组（*P*<0.05）。III组的瘤胃液果胶酶活性显著高于其他组（*P*<0.05），且其他组之间无显著差异（*P*>0.05）。

表 5　饲粮中胡麻饼代替豆粕对绵羊瘤胃液中消化酶活的影响

Table 5　Effects of replacement of soybean meal by oil cake of flax seed in diets on rumen digestion enzyme activity of sheep　　U/mL

项目 Items	组别 Groups CK	I	II	III	*P* 值 *P*-value
α-淀粉酶 α-amylase	0.31±0.04	0.25±0.02	0.39±0.04	0.37±0.08	0.112
羟甲基纤维素酶 Carboxymethyl cellulose	0.13±0.02[b]	0.16±0.03[ab]	0.21±0.01[a]	0.22±0.02[a]	0.040
β-葡萄糖苷酶 β-glucosidase	0.06±0.03[b]	0.06±0.02[b]	0.13±0.02[a]	0.13±0.01[a]	0.025
木聚糖酶 Xylanase	0.26±0.03[b]	0.22±0.01[b]	0.34±0.04[ab]	0.47±0.09[a]	0.024
果胶酶 Pectase	0.65±0.08[b]	0.59±0.06[b]	0.65±0.07[b]	0.99±0.08[a]	0.007
蛋白酶 Protease	33.41±0.97[b]	37.28±1.61[b]	44.12±1.70[a]	44.12±1.22[a]	＜0.001

2.3　饲粮中胡麻饼代替豆粕对绵羊瘤胃发酵的影响

由表 6 可见，胡麻饼代替豆粕对绵羊瘤胃液 pH 无显著影响（*P*>0.05）。II组的瘤胃液乙酸、丁酸和总挥发性脂肪酸（TVFA）浓度显著高于 CK、I和III组（*P*<0.05），且这 3 组之间无显著差异（*P*>0.05）；不同胡麻饼添加比例对瘤胃液丙酸浓度和乙丙比均无显著影响（*P*>0.05）。

与 CK 组相比，3 个胡麻饼添加组的瘤胃液 NH_3-N 浓度显著降低（P<0.05），MCP 浓度显著升高（P<0.05），且这 3 组之间无显著差异（P>0.05）；不同胡麻饼添加比例对瘤胃液乳酸浓度无显著影响（P>0.05）。

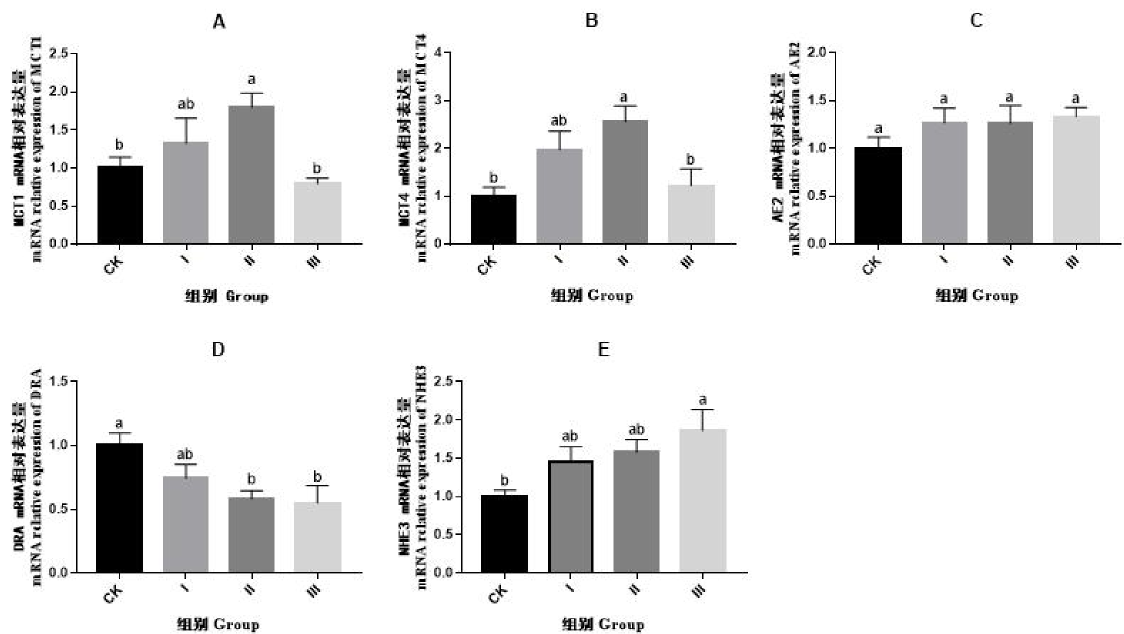
表 6　饲粮中胡麻饼代替豆粕对绵羊瘤胃发酵的影响

Table 6　Effects of replacement of soybean meal by oil cake of flax seed in diets on rumen fermentation of sheep

项目 Items	组别 Groups CK	I	II	III	P 值 P-value
pH	6.80±0.17	6.88±0.07	6.91±0.05	6.84±0.06	0.281
乙酸 Acetic acid/(mmol/L)	27.62±2.14[b]	24.45±0.52[b]	39.71±7.49[a]	26.63±0.92[b]	0.049
丙酸 Propionic acid/(mmol/L)	8.33±0.55	7.07±023	9.38±1.32	6.26±0.68	0.066
丁酸 Butyric acid/(mmol/L)	3.58±0.28[b]	2.99±0.44[b]	5.57±0.68[a]	3.86±0.24[b]	0.008
总挥发性脂肪酸 TVFA/(mmol/L)	39.53±2.87[b]	34.50±0.81[b]	54.66±9.38[a]	36.85±0.61[b]	0.037
乙丙比 A/P	3.31±0.10	3.48±0.18	4.14±0.25	4.33±0.48	0.062
乳酸 Lactic acid/（mmol/L)	0.15±0.03	0.04±0.02	0.10±0.05	0.06±0.03	0.150
氨态氮 Ammonia N/（mg/dL)	14.76±1.16[a]	10.83±0.38[b]	11.64±1.07[b]	11.40±0.68[b]	0.025
微生物蛋白 Microbial protein/（mg/dL）	14.26±1.91[b]	21.66±2.43[a]	20.74±2.77[a]	21.50±0.85[a]	0.046

2.4　饲粮中胡麻饼代替豆粕对绵羊瘤胃上皮组织 VFA 吸收相关基因表达的影响

由图 1-A 和图 1-B 所示，II组的 *MCT*1 和 *MCT*4 的 mRNA 相对表达量显著高于 CK 和III组（*P*<0.05），但与I组无显著差异（*P*>0.05）。胡麻饼代替豆粕对 *AE*2 的 mRNA 相对表达量无显著影响（*P*>0.05）（图 1-C）。CK 和I组的 *DRA* 的 mRNA 相对表达量无显著差异（*P*>0.05），但II和III组显著低于 CK 组（*P*<0.05）（图 1-D）。III组的 *NHE*3 的 mRNA 相对表达量显著高于 CK 组（*P*<0.05），CK、I和II组之间无显著差异（*P*>0.05）（图 1-E）。



数据柱形标注不同小写字母表示差异显著（*P*<0.05）。Value columns with different small letters mean significant difference (*P*<0.05).

图 1　饲粮中胡麻饼代替豆粕对绵羊瘤胃上皮组织中 VFA 吸收相关基因表达 mRNA 相对表达量的影响

Fig. 1　Effects of replacement of soybean meal by oil cake of flax seed in diets on mRNA relative expression level of genes related to VFA absorption in rumen epithelial tissue of sheep

3　讨　论

3.1　饲粮中胡麻饼代替豆粕对绵羊瘤胃液中消化酶活性的影响

饲粮在瘤胃内的消化需要多种消化酶协同完成，羧甲基纤维素酶、β-葡萄糖苷酶、木聚糖酶及果胶酶活性能够反映瘤胃对饲粮中纤维的降解能力；淀粉酶和蛋白酶活性能够显示瘤胃对饲粮中淀粉和蛋白质的降解能力。大部分的消化酶是由瘤胃微生物分泌的胞内酶和胞外酶[15]，

本试验所研究的是胞外酶活性。胡麻饼中植酸磷含量在 0.02%~0.24%，而豆粕中植酸磷含量高达 0.43%，植酸磷可以同淀粉酶和胃蛋白酶相结合，从而影响瘤胃液消化酶活性[19]。本试验研究显示，随着胡麻饼代替豆粕比例的增加，瘤胃液羟甲基纤维素酶、β-葡萄糖苷酶酶、木聚糖酶、果胶酶和蛋白酶活性显著升高，这与王蕾等[20]研究一致。一方面胡麻饼中含有丰富的α-亚麻酸，其可以作为前体物质影响瘤胃微生物的属性[1]，而且胡麻饼含有丰富的 B 族维生素，两者都有利于瘤胃微生物的生长，从而提高消化酶的产量；同时 B 族维生素也是一种辅酶或是辅酶的主要成分，起到催化作用。另一方面，亚麻籽胶可以提高瘤胃微生物粘附饲粮的能力[21]；而且亚麻籽胶吸水膨胀，有利于微生物在饲粮表面附着，促进瘤胃微生物的生长，增加消化酶的分泌。

3.2　饲粮中胡麻饼代替豆粕对绵羊瘤胃发酵的影响

瘤胃液 pH 是反映瘤胃发酵水平和瘤胃内环境状况的一项综合性指标[22]，受食入饲粮在瘤胃内的发酵产物 VFA 和乳酸等指标影响[23]。本研究中各组瘤胃液 pH 无显著差异，且均在正常范围之内（5.5~7.5）[24]，这与 Benchaar 等[25]研究一致。

饲粮中的碳水化合物通过瘤胃微生物发酵产生的 VFA，其不仅是瘤胃利用饲粮碳水化合物的终产物，而且是反刍动物能量利用的主要形式[26]，瘤胃 VFA 的产量和组成比例是评述瘤胃发酵方式和能量转化的直接指标。本试验中，添加 12%胡麻饼显著提高了瘤胃液乙酸、丁酸和 TVFA 浓度，这主要是因为适量胡麻饼增加了纤维消化酶的分泌，提高纤维消化酶活性，从促进瘤胃液中的乙酸和丁酸的生成。但胡麻饼 18%添加组的瘤胃液乙酸、丁酸和 TVFA 浓度却显著低于 12%添加组，可能是因为随着胡麻饼添加比例增加，PUFA 堆积程度超过了部分瘤胃微生物对 PUFA 的氢化能力，从而影响瘤胃发酵[27]。胡麻饼的添加并没有对乙丙比产生显著的影响，即没有改变瘤胃内的发酵类型，这与 Martin 等[2]研究的亚麻籽可以改变瘤胃发酵类型并不矛盾：一方面，在本试验条件下，随着胡麻饼的添加，CP 含量逐渐降低，却能为发酵碳水化合物的瘤胃微生物提供充足的氮源，是因为胡麻饼蛋白质具有更好的持水性和乳化性[21]；同时胡麻饼提供的 CP 几乎不含动物无法利用的醇溶蛋白，而其富含的清蛋白、谷蛋白和球蛋白都能够很好地被瘤胃微生物消化利用[28]；胡麻饼的添加同样能为瘤胃发酵提供配合平衡的瘤胃降解

蛋白（RDP）和瘤胃非降解蛋白（RUP）[29]；而大豆中含有的植酸磷、胰蛋白酶抑制剂和大豆凝血素等抗营养因子降低了大豆蛋白的利用率[30]。另一方面，胡麻饼相对于亚麻籽，脂肪的含量和种类发生一定的变化，而饲粮中添加植物油对瘤胃 VFA 的影响与脂肪添加量和种类等有关[31]。

瘤胃液中 NH_3-N 浓度是反映瘤胃氮代谢的重要指标，主要受瘤胃壁的吸收、食糜的排空速度及 MCP 合成效率等综合影响[32]。Murphy 等[33]指出，瘤胃微生物生长的最佳 NH_3-N 浓度为 6.3~27.5 mg/dL。本试验中胡麻饼代替豆粕显著降低了 NH_3-N 在瘤胃液中的浓度，这与 Jalc 等[34]研究一致。一方面胡麻饼中的亚麻籽胶可以有效地促进瘤胃壁的吸收和食糜的排空速度[35]，另一方面可能是胡麻饼促进了瘤胃液中 NH_3-N 合成 MCP。瘤胃能氮同步释放的理论基础是瘤胃内微生物对食入饲粮中氮和能量的选择性、依赖性和时效性，而 MCP 浓度是能氮同步性最直接的表现结果[36]。MCP 能氮同步说明饲粮底物在瘤胃内的可发酵有机物（FOM）被发酵的速度和可降解氮（RDN）被降解的速度相互同步。本研究显示，饲粮中胡麻饼代替豆粕显著提高了瘤胃液 MCP 浓度，可能是因为胡麻饼能够代替豆粕为瘤胃液提供更为合适的 FOM/RDN 比例，同时也与胡麻饼促进 NH_3-N 合成 MCP 的结果相符。NH_3-N 浓度的降低和 MCP 浓度的升高，是否能说明胡麻饼代替豆粕促进了 NH_3-N 向 MCP 的转化，还需要进一步的研究。

3.3　饲粮中胡麻饼代替豆粕对绵羊瘤胃上皮组织 VFA 吸收相关基因表达的影响

瘤胃发酵不断产生 VFA，为瘤胃微生物维持一个适宜生长发育的弱酸环境。但如果大量的 VFA 在瘤胃内堆积，会导致瘤胃 pH 下降，引起酸中毒[37]，从而降低瘤胃微生物的纤维降解能力以及瘤胃上皮的吸收功能[38]。瘤胃内一少部分 VFA 被唾液中的碳酸盐中和，一部分随食糜进入肠道，而 85%左右的 VFA 被瘤胃壁吸收进入血液[40]。瘤胃 VFA 通常以非解离形式（HSCFA）被动扩散或以解离形式（$SCFA^-$）与 HCO_3^-离子交换等途径被上皮细胞有效吸收[39-40]。VFA 在瘤胃上皮通过被动扩散进入血液时，亲脂性分子 HSCFA 通过被动扩散进入瘤胃上皮细胞后，迅速解离成 H^+和 $SCFA^-$，胞内 H^+浓度升高，激活瘤胃上皮基底层细胞浆膜面单羧酸转运蛋白（MCTs）或 Na^+/H^+交换蛋白（NHE）等转运载体，参与 H^+、乳酸和酮体的排出[41-42]。VFA 在瘤胃上皮通过离子交换进入血液时，$SCFA^-$依赖位于瘤胃上皮细胞基顶膜的阴离子交换蛋白

（AE）或位于基底膜的 DRA 介导 $SCFA^-$与 HCO_3^-进行交换[43]，从而达到转运 VFA 的目的。VFA 通过离子交换途径转运吸收 VFA 的速率随着瘤胃中 HSCFA 浓度的增加和 pH 的降低而显著增加，随着基底膜或基顶膜内侧的 HCO_3^-的浓度降低而降低[44]。有研究指出，改变山羊饲喂水平可以改变瘤胃上皮细胞与 VFA 吸收相关基因的 mRNA 表达量和活性[45-47]。本研究显示，胡麻饼 12%添加组的 *MCT*1 和 *MCT*4 的 mRNA 相对表达量显著高于 CK 组，是因为 12%添加量显著增加了丁酸浓度，丁酸可以刺激瘤胃上皮细胞的增殖[48]，同时丁酸具有较高亲脂性，且多数以非解离状态存在[18]，因此 HSCFA 浓度升高促进其被动运输，提高了 *MCT*1 和 *MCT*4 的 mRNA 相对表达量，这与 Yan[45]和 Yang 等[49]研究结果一致。但与胡麻饼 12%添加组相比，18%添加组显著降低了 *MCT*1 和 *MCT*4 mRNA 的相对表达量，是因为胡麻饼中含有抗营养因子亚麻氰苷，亚麻氰苷在瘤胃内产生有毒物质氰化氢（HCN）[8]，过多的 CN^-抑制细胞内的呼吸酶活性，组织细胞缺氧，从而影响 *MCT*1 和 *MCT*4 mRNA 的表达。本研究还显示，添加 12%和 18%胡麻饼均显著降低了 *DRA* 的 mRNA 相对表达量，可能是因为胡麻饼中的α-亚麻酸可以减少瘤胃液中 CO_2 的产量[50]，从而降低了 HCO_3^-的浓度，减弱了离子交换途径，降低了 *DRA* 的 mRNA 的表达。但胡麻饼中的α-亚麻酸和亚麻氰苷是否直接影响 VFA 吸收基因的表达，还需要进一步研究。

4 结 论

饲喂胡麻饼添加比例为 12%的饲粮降低了绵羊的料重比，提高了瘤胃乙酸、丁酸和 TVFA 的浓度，降低 NH_3-N 的浓度，同时提高 MCP 浓度；增强了羟甲基纤维素酶、β-葡萄糖苷酶和蛋白酶的活性；同时也提高了 VFA 吸收相关基因（*MCT*1、*MCT*4 和 *NHE*3）的相对表达量，降低 *DRA* 的 mRNA 相对表达量。综上，在本研究条件下，绵羊饲粮中胡麻饼代替一定比例的豆粕能够改善瘤胃的代谢，且饲粮中胡麻饼适宜添加比例为 12%。

参考文献：

[1] VAN NEVEL C J, DEMEYER D I. Control of rumen methanogenesis[J]. Environmental Monitoring & Assessment, 1996, 42(1-2): 73-97.

[2] MARTIN C, ROUEL J, JOUANY J P, et al. Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil.[J]. Journal of Animal Science, 2008, 86(10): 2642-2650.

[3] WOODWARD S L, WAGHORN G C, THOMSON N A. Supplementing dairy cows with oils to improve performance and reduce methane-Does it work?[J]. Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production, 2006, 66:176-181.

[4] GRAINGNER C, CLARKE T, BEACHEMINK A, et al. Supplementation with whole cottonseed reduces methane emissions and can profitably increase milk production of dairy cows offered a forage and cereal grain diet.[J]. Australian Journal of Experimental Agriculture, 2008, 48(2):393-399.

[5] 武晓东, 赵俊星, 刘文忠,等. 饲粮中胡麻饼代替豆粕对绵羊生产性能、肉品质、脂肪酸含量及血液生化指标的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2017, 48(7): 1260-1270.

[6] 孙健. 亚麻籽胶对肉制品保水性、乳化性、淀粉糊化和老化特性影响及其应用[D]. 南京农业大学, 2011.

[7] GIRGIH A T, NWACHUKWU I D, HASAN F, et al. Kinetics of the inhibition of renin and angiotensin I-converting enzyme by cod (*Gadus morhua*) protein hydrolysates and their antihypertensive effects in spontaneously hypertensive rats[J]. Food Nutrition Research, 2015, 59.

[8] 纪云晶. 实用毒理学手册[M]. 北京：中国环境科学出版社，1991.

[9] 张丽英.饲料分析及饲料质量检测技术[M]. 3 版北京:中国农业大学出版社,2007:1212-1235.

[10] VAN SOEST P J, ROBERTSON J B, LEWIS B A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition[J]. Journal of Dairy Science, 1991, 74(10):3583-3597.

[11] 朱宇旌, 郑兰宇, 张勇,等. 饲料中钙含量测定方法的比较[J]. 畜牧与兽医, 2009, 41(9):51-53.

[12] 李会娟. 2 种植物磷含量的检测方法比较研究[J]. 现代农业科技, 2012(11):16-17.

[13] ZHAO J, MA X, JIN Y, et al. Energy requirements for the maintenance and growth of Dorper-Jinzhong crossbred ram lambs[J]. Italian Journal of Animal Science, 2016, 15(1):94-102.

[14] 张莹莹. 菌糠饲料对肉牛消化代谢和生产性能的影响[D]. 山西农业大学, 2016.

[15] 金亚倩, 赵俊星, 刘文忠,等. 酿酒葡萄皮渣对绵羊瘤胃代谢及发育的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2017, 48(9): 1683-1693.

[16] MAKKAR H P, SHARMA O P, DAWRA R K, et al. Simple determination of microbial protein in rumen liquor[J]. Journal of Dairy Science, 1982, 65(11):2170-2173.

[17] AGARWAL N, KAMRA D N, CHAUDHARY L C, et al. Microbial status and rumen enzyme profile of crossbred calves fed on different microbial feed additives[J]. Letters in Applied Microbiology, 2002, 34(5): 329-36.

[18] 翁秀秀. 饲喂不同饲粮奶牛瘤胃发酵和 VFA 吸收特性及其相关基因表达的研究[D]. 甘肃农业大学, 2013.

[19] 翟双双, 李孟孟, 冯佩诗,等. 四川白鹅、樱桃谷肉鸭对不同产地亚麻饼粕养分利用率的影响[J]. 动物营养学报, 2016, 28(7):2147-2153.

[20] 王蕾, 王加启, 卜登攀,等. 奶牛饲粮添加共轭亚油酸和二十二碳六烯酸对瘤胃纤维素酶活性的影响[J]. 东北农业大学学报, 2009, 40(4): 65-68.

[21] DECK DK，QUENSEL E.亚麻籽蛋白质产品的制备及其功能特性[J]. Journal of Food Science, 1988,53(6): 1834-1837。

[22] 冯仰廉. 反刍动物营养学[M]. 北京：科学出版社，2006.

[23] GUERRA-RIVAS C, GALLARDO B, MANTECÓN Á R, et al. Evaluation of grape pomace from red wine by-product as feed for sheep[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2016, 97(6): 1885.

[24] KRAUSE K M, OETZEL G R. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review[J]. Animal Feed Science & Technology, 2006, 126(3): 215-236.

[25] BENCHAAR C, ROMERO-PÉREZ G A, CHOUINARD P Y, et al. Supplementation of increasing amounts of linseed oil to dairy cows fed total mixed rations: effects on digestion, ruminal fermentation characteristics, protozoal populations, and milk fatty acid composition[J]. Journal of Dairy Science, 2012, 95(8): 4578-90.

[26] BERGMAN E N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species[J]. Physiological Reviews, 1990, 70(2): 567.

[27] 双金. 富含α-亚麻酸油籽对肉羊血清生化指标及瘤胃微生物区系和体脂脂肪酸组成的影响[D].内蒙古农业大学,2014.

[28] POLIT P F, SGARBIERI V C. Some physicochemical and nutritional properties of castor bean (*Ricinus communis*) protein[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1976, 24(4): 289-295.

[29] 张民. 饲料蛋白质组分对泌乳奶牛瘤胃发酵和乳成分影响的研究[D]. 中国农业科学院, 2006.

[30] 高美云, 张通, 刘宾,等. 豆粕抗营养因子及其生物改性的研究[J]. 中国饲料, 2010(3):37-41.

[31] 杨舒黎. 饲粮添加豆油和胡麻油对奶牛瘤胃细菌及发酵参数的影响[D]. 中国农业科学院, 2007.

[32] BENCHAAR C, CALSAMIGLIA S, CHAVES A V, et al. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production[J]. Animal Feed Science & Technology, 2008, 145(1): 209-228.

[33] MURPHY J J, KENNELLY J J. Effect of protein concentration and protein source on the degradability of dry matter and protein in situ.[J]. Journal of Dairy Science, 1987, 70(9): 1841.

[34] JALC D S A V. Effect of unsaturated C18 fatty acids (oleic, linoleic and alpha-linolenic acid) on ruminal fermentation and production of fatty acid isomers in an artificial rumen[J]. Veterinarni Medicina, 2007, 52(3): 87-94.

[35] 刘勇, 刘惠军, 刘宏. 新的天然植物胶——亚麻籽胶[J]. 内蒙古石油化工, 2001, 27(4): 180-181.

[36] 申军士. 饲粮能氮释放同步性对奶牛瘤胃代谢、生产效率与性能的影响研究[D]. 浙江大学, 2013.

[37] BEAUCHEMIN K, PENNER G, EASTRIDGE M L. New developments in understanding ruminal acidosis in dairy cows.[C]// Proceedings of the 18th Annual Tri-State Dairy Nutrition Conference, Fort Wayne, Indiana, USA, 21-22 April, 2009. 2009.

[38] BANNINK A, FRANCE J, LOPEZ S, et al. Modelling the implications of feeding strategy on rumen fermentation and functioning of the rumen wall[J]. Animal Feed Science & Technology, 2008, 143(1): 3-26.

[39] ASCHENBACH J R, PENNER G B, STUMPFF F, et al. Ruminant Nutrition Symposium: Role of fermentation acid absorption in the regulation of ruminal pH[J]. Journal of Animal Science, 2011, 89(4): 1092-107.

[40] LEONHARDMAREK S, STUMPFF F, MARTENS H, et al. Transport of cations and anions across fore stomach epithelia: conclusions from *in vitro* studies.[J]. Animal an International Journal of Animal Bioscience, 2010, 4(7): 1037.

[41] MÜLLER F, HUBER K, PFANNKUCHE H, et al. Transport of ketone bodies and lactate in the sheep ruminal epithelium by monocarboxylate transporter 1[J]. American Journal of Physiology Gastrointestinal & Liver Physiology, 2002, 283(5): 1139-46.

[42] KIRAT D, MASUOKA J, HAYASHI H, et al. Monocarboxylate transporter 1 (MCT1) plays a direct role in short-chain fatty acids absorption in caprine rumen[J]. Journal of Physiology, 2010, 576(2): 635-647.

[43] BILK S, HUHN K, HONSCHA K U, et al. Bicarbonate exporting transporters in the ovine ruminal epithelium[J]. Journal of Comparative Physiology B, 2005, 175(5):365.

[44] DENGLER F, RACKWITZ R, BENESCH F, et al. Bicarbonate-dependent transport of acetate and butyrate across the basolateral membrane of sheep rumen epithelium[J]. Acta Physiologica, 2014, 210(2): 403-414.

[45] YAN L, ZHANG B, SHEN Z. Dietary modulation of the expression of genes involved in short-chain fatty acid absorption in the rumen epithelium is related to short-chain fatty acid concentration and pH in the rumen of goats[J]. Journal of Dairy Science, 2014, 97(9): 5668-75.

[46] ETSCHMANN B, SUPLIE A, MARTENS H. Change of ruminal sodium transport in sheep during dietary adaptation[J]. Archives of Animal Nutrition, 2009, 63(1): 26-38.

[47] KUZINSKI J, RÖNTGEN M. The mRNA and protein expression of ruminal MCT1 is increased by feeding a mixed hay/concentrate diet compared with hay ad libitum diet (Short Communication)[J]. Archiv Fur Tierzucht, 2011, 54(3).

[48] SAKATA T, TAMATE H. Rumen epithelial cell proliferation accelerated by rapid increase in intraruminal butyrate[J]. Journal of Dairy Science, 1978, 61(8): 1109-1113.

[49] YANG W, SHEN Z, MARTENS H. An energy-rich diet enhances expression of Na(+)/H(+) exchanger isoform 1 and 3 messenger RNA in rumen epithelium of goat[J]. Journal of Animal Science, 2012, 90(1):307-17.

[50] 周薇. α-亚麻酸对瘤胃微生物生物氢化中间产物的影响[D]. 延边大学, 2014.

Effects of Replacement of Soybean Meal by Oil Cake of Flax Seed on Rumen Metabolism in Lambs

YU Shengchen[1] HAO Xiaoyan[1] WU Xiaodong[1] DING Na[1] DIAO Xiaogao[1]

XIANG Binwei[2] ZHANG Wenjia[2] ZAHNG Jianxin[1*]

（1. *College of Animal Science and Technology, Shanxi Agricultural University, Taigu* 030801, *China*;

2. *Animal Husbandry Bureau of Youyu County*，*Youyu* 037200, *China*）

Abstract: The objective of this study was to investigate the effects of replacement of soybean meal by oil cake of flax seed on rumen metabolism by detecting rumen fermentation, digestive enzyme activities and expression of genes related to volatile fatty acid (VFA) absorption in rumen epithelial tissue in lambs. A total of 24 five-month-old Dorper × Small Tail Han sheep ram lambs with body weight of (26.0±1.0) kg were randomly selected, equally assigned into 4 groups [groups CK (control), I, II and III] with 6 sheep in each group, and fed diets replaced soybean meal by oil cake of flax seed

(the adding proportion of oil cake of flax seed were 0, 6%, 12% and 18%, respectively). At end of the experiment, all lambs were slaughtered, and the rumen fluid and rumen tissue samples were collected. The pre-test lasted for 10 d, and the formal test lasted for 60 d. The results showed as follows: 1) the average daily gain of groups I and II was not significantly different from that of CK group (P>0.05), but significantly higher than that of group III (P<0.05). The feed to gain ratio of II group was significantly lower than that of CK group (P<0.05). 2) Compared with CK group, the activities of carboxymethyl cellulose, β-glucosidase and protease of groups II and III were significantly increased (P<0.05), and the activities of xylanase and pectase of group III were increased significantly (P<0.05). 3) Compared with CK group, no significant effects were observed on rumen pH, propionic acid and lactic acid concentrations, and acetic acid/propionic acid ratio when soybean meal were replaced by oil cake of flax seed (P>0.05); however, acetic acid, butyric acid and total VFA concentrations of II group were significantly increased (P<0.05); ammonia nitrogen (NH_3-N) concentration was significantly decreased (P<0.05), and microbial protein (MCP) yield was significantly increased (P<0.05). 4) Compared with CK group, the mono-carboxylate transporters 1 (*MCT*1) and mono-carboxylate transporters 4 (*MCT*4) mRNA relative expression of II group were significantly increased (P<0.05) and the down regulated in adenoma (*DRA*) mRNA relative expression was significantly decreased (P<0.05); additionally, the Na^+/H^+ exchange (*NHE*3) mRNA relative expression of group III was significantly increased (P<0.05), but the *MCT*1, *MCT*4 and *DRA* mRNA relative expression were significantly decreased (P<0.05); no difference was found in the anion exchanger 2 (*AE*2) mRNA relative expression among groups (P>0.05). In conclusion, replacing soybean meal by oil cake of flax seed in a certain proportion could effectively improve metabolism and development of rumen in lamb diets. Moreover, the optimal proportion of oil cake of flax seed is 12% under the condition of this experiment.

Key words: oil cake of flax seed; lambs; rumen fermentation; enzyme activity; VFA related gene expression

*Corresponding author, professor, E-mail: ypzjx@126.com (责任编辑　陈　鑫)